Ueber

experimentell zu erzeugende melliturie.

Inauguraldissertation

zur

erlangung der medicinischen doktorwürde

vorgelegt der

hohen medicinischen facultät

der

Friedrich-Alexander-universität zu Erlangen

von

Max Hænisch aus Colberg.
appr. arzt.

Colberg 1887.
Druck der C. F. Post'schen Buchdruckerei (Dr. P. Jancke).

Gedruckt mit Genehmigung der medizinischen Fakultät.
Ref.: Professor Dr. Penzoldt.

Nachstehende arbeit wurde auf veranlassung des herrn prof. dr. R. Fleischer begonnen, und im physiologischen laboratorium zu Erlangen ausgeführt.

Es ist mir eine angenehme pflicht, meinem hochverehrten lehrer herrn prof. dr. R. Fleischer für die bei meinen arbeiten durch rat und tat in so liebenswürdiger weise erteilte unterstützung meinen besten Dank auszusprechen, sowie auch herrn prof. dr. J. Rosenthal für die freundliche erlaubniss, das laboratorium des physiologischen instituts zu meinen arbeiten benuzen zu dürfen, zu danken.

Seinem lieben schwager

Dr. P. Meisner

der verfasser.

Zu den schwierigsten problemen der medicinischen wissenschaft hat von jeher die erklärung des diabetes mellitus gehört, einer krankheit, bei welcher der im organismus aus den kohlehydraten, dem eiweiss und fett sich abspaltende zucker zum grössten teil für den organismus nicht verwertet, sondern unverändert mit dem harn wieder ausgeschieden wird, und in demselben quantitativ und qualitativ durch geeignete Proben bestimmt werden kann. Zahlreiche erklärungsversuche sind seit dem bekanntwerden der krankheit gemacht worden, welche aber niemals allgemeine anerkennung gefunden haben. So ist von Mialhe die behauptung aufgestellt worden, dass bei diabetikern die alkalinität des blutes gegenüber gesunden menschen eine verminderte sei, und desswegen der im blut circulirende traubenzucker, welcher bekanntlich in alkalischer lösung leichter oxydirbar ist, nicht verbrannt werde. Exacte chemische untersuchungen des blutes von diabetikern haben dieser annahme jede stütze genommen, da der mangel der alkalinität nicht nachgewiesen werden konnte. Von anderen autoren ist die hypothese aufgestellt worden, dass eine lebererkrankung, welche zu functionsstörungen veranlassung gebe, die ursache des diabetes sei. Bekanntlich wird der aus den kohlehydraten unter der einwirkung von fermenten gebildete, und der mit den speisen zugeführte traubenzucker erst in glycogen verwandelt, und dann findet nach der zurückverwandlung des glycogens in traubenzucker erst eine oxydation desselben im blute statt. Man nahm nun an, dass ein grösserer teil des traubenzuckers nicht in glycogen übergeführt werde, und dass dieser zucker sich der oxydation gegenüber widerstandsfähiger verhalte, als der aus dem glycogen

entstehende, welcher in statu nascendi reactionsfähiger sei, und leichter zerfalle. Aber auch für diese annahme sind die bisher angeführten gründe nicht in jeder beziehung stichhaltig, so dass wir zur Zeit der Erklärung des diabetes noch als einem zu lösenden rätsel gegenüberstehen. Die symptome der krankheit und die nach und nach im verlauf desselben entstehenden pathologisch-anatomischen veränderungen in verschiedenen lebenswichtigen organen hat man auf die gegenwart des zuckers zurückgeführt. So hat man gemeint, dass die polyurie durch die hygroskopische eigenschaft des zukers, welcher grosse mengen wasser zu seiner ausscheidung und lösung brauche, zwanglos zu erklären sei. Ferner hat man die trübung der Linse (katarakt der diabetiker) ebenfalls auf wasserentziehung und austroknung der gewebe, die durch den Zucker hervorgerufen werde, erklärt. Da troz sorgfältigster klinischer beobachtungen und pathologisch-anatomischer untersuchungen, troz zahlreicher chemischer untersuchungen des harns, die unter sorgfältigster berücksichtigung des stoffwechsels angestellt sind, man dem erstrebten ziel eine allgemeinbefriedigende erklärung des diabetes symptomencomplexes zu gewinnen bisher nicht nahe gekommen ist, so erscheint jeder experimentelle beitrag, welcher durch tierversuche die Frage zu entscheiden sucht, berechtigt und ist zu begrüssen.

Aus diesem grunde scheint es natürlich, dass die in den lezten jahren von v. Mering angestellten untersuchungen, welche darauf ausgingen, durch bestimmte chemische stoffe diabetes mellitus experimentell zu erzeugen bei den theoretikern und praktikern allgemeines aufsehen erregten. Wir wollen an dieser stelle aber gleich betonen, dass es bei jenen versuchen nicht gelungen ist, den symptomencomplex des diabetes mellitus, sondern nur ein symptom desselben, das auftreten von zucker im harne, also eine melliturie zu erzeugen.

Von Mering hat nachgewiesen, dass nach längerem hungern (8—9 tage) beim hund der glycogengehalt in der leber und im tierkörper überhaupt vollständig schwindet, wenn dem tiere grössere mengen eines glycosids, des phloridzin's innerlich, und zwar ungefähr 1,0 gramm auf ein kilogramm körpergewicht bei-

gebracht werden. Er hat dann ferner durch vergleichende bestimmungen des stoffwechsels, vor allem des mit dem harn ausgeschiedenen harnstoff's (stickstoff's) mit sicherheit festgestellt, dass der im harn erscheinende zucker jedenfalls zum grössten teil aus dem eiweiss abgespalten werde, so dass dieses einen grösseren kohlehydratkern besizen muss Durch vergleichung des nach und nach abnehmenden körpergewichtes hat er gefunden, dass selbst für den fall, dass wir eine abnahme allein auf rechnung verbrannten fettes sezen, die menge des berechneten fettes nicht ausreiche, um die grosse menge des ausgeschiedenen zuckers auf die zersezung desselben zurückzuführen. —

Wenn man dagegen aus dem mit dem harn ausgeschiedenen harnstoff — beziehungsweise dem aus dem harnstoff berechneten stickstoff — die menge des verbrannten eiweiss berechnet, so lässt sich aus den gewonnenen zahlen erweisen, dass aus der zerzezung des eiweiss die betreffende menge des zuckers sich ganz gut erklären lässt, selbst, wenn wir annehmen dass der aus dem phloridzin im organismus entstehende zucker nicht verbrannt wird, und in abrechnung kommt. — Es geht also aus jenen schönen untersuchungen zur evidenz hervor, dass aus dem eiweiss zucker sich bilden kann, eine tatsache, welche bisher auf chemischem wege nicht hat nachgewiesen werden können, da es noch niemand gelungen ist, im reagenzglass aus eiweis zucker darzustellen. — Wir müssen demnach auf grund jener versuche annehmen, dass das phloridzin die zellen des tierkörpers in der weise affizirt, dass sie nicht im stande sind, den unter normalen verhältnissen aus dem eiweiss entstehenden zucker zu zersezen. Die gleichen verhältnisse müssen wir bei den diabetikern annehmen, bei welchen bei absoluter fleischdiät immer noch eine grössere menge zucker mit dem harn ausgeschieden wird, welche doch nur aus dem eiweiss und fett der nahrung und der körpersubstanz stammen kann. Auch scheint selbst beim schwersten diabetiker immer noch ein teil des aus dem eiweiss entstehenden zuckers verbrannt zu werden, da nach den angaben von v. Mering auf ein gramm des mit dem harn ausgeschiedenen harnstoffs (stickstoff's) viel weniger zucker ausgeschieden wird, als bei den mit phloridzin gefütterten hunden.

Bei der wichtigkeit des gegenstandes erschien es angezeigt,

den angaben v. Merings nachzugehen, vor allem aber durch sorgfältige vergleichende bestimmungen festzustellen, dass die mit dem harn nach phloridzin genuss ausgeschiedenen reduzirenden substanzen wirklich ganz aus zucker bestehen, und wir benuzten zu der feststellung drei verschiedene methoden nämlich erstens die quantitative bestimmung des zuckers im harn mit einem ausgezeichnet fein reagirenden polarisationsapparat (der halbschattenapparat von Laurent), zweitens die gährungsprobe mit einem von prof. dr. R. Fleischer angegebenen apparat, welcher vorläufig allerdings noch nicht eine ganz genaue quantitative bestimmung des zuckers ermöglicht, (an der vervollkommnung des apparates wird zur zeit gearbeitet), und drittens die titrirmethode mit Fehling'scher lösung

Sind die angaben und schlussfolgerungen von v. Mering richtig, so müssen wir mit allen drei methoden annähernd dieselben resultate erhalten.

Da wir zu unseren versuchen nicht so grosse hunde benuzten, so haben wir nicht so bedeutende gaben von phloridzin verabreicht, wie v. Mering, doch haben wir, abgesehen von einigen kleinen vorversuchen, doch mindestens soviel gegeben, dass mehr als 1,0 gramm phloridzin auf ein kilogramm körpergewicht kam. Ferner schien es uns von interesse, den stoffwechsel des tieres während des hungerns vor der darreichung von phloridzin zu controliren, um festzustellen, ob vielleicht unter dem einflusse des phloridzin's der stoffwechsel beschleunigt werde, was aus den versuchen v Mering's nicht hervorgeht, da seine angaben sich nur auf die tage beziehen, an welchen das phloridzin in wiederholten dosen gereicht war.

Da ferner durch vielfache, im laboratorium des physiologischen instituts — ebenfalls unter der leitung des prof. dr. R Fleischer — angestellten versuche sich ergeben hatte, dass das cocaïn im anfang seiner darreichung den stoffwechsel in ausserordentlich hohem grade, noch mehr, wie der alkohol, verlangsamt, so nahmen wir uns vor, zu gleicher zeit die einwirkung des phloridzin's und cocaïn's auf den stoffwechsel zu prüfen, und die versuchsergebnisse mit denen zu vergleichen, welche bei reiner phloridzin darreichung gewonnen waren.

Da bekanntlich die mit dem harnstoff ausgeschiedene phosphorsäure unter normalen verhältnissen zu dem ausgeschiedenen harnstoff in einem gewissen verhältniss steht, so dass, wenn viel harnstoff ausgeschieden wird, auch viel phosphorsäure im harn erscheint, und umgekehrt, so haben wir auch bei unseren versuchen die phosphorsäure quantitativ (durch titrirmethode) bestimmt. Ferner wurde während des hungerns der harn sorgfältig sowol mit den bekannten reductionsproben, als auch mit dem polarisations- und gährungsapparat untersucht. Es zeigte sich dabei, dass vor der phloridzindarreichung, selbst wenn die inanition 3—5 tage gedauert hatte, kein zucker im harn vorhanden war. Auch gab die Trommer'sche und die kali-probe jedesmal ein negatives resultat. Dagegen war festzustellen, dass während des hungerns nach und nach solche substanzen, welche auch reducirend wirken, — nur dass sie das schwefelsaure kupfer unverändert lassen, dagegen mit orthonitro propionsäure in alkalischer lösung indigo geben, — an menge immer zunahmen, so dass an den letzten hungertagen sehr bedeutende quantitäten vorhanden waren.

Bevor wir zu den tierversuchen selbst übergingen, wurde das phloridzin auf seine chemischen und physikalischen erscheinungen geprüft, und folgendes gefunden.

Das phloridzin ist in wasser nur sehr wenig löslich. Die lösung bekommt bei längerem stehen am licht einen leichten stich in's gelblich-rötliche. Etwas mehr, doch auch noch sehr wenig, ist es löslich in mineralsäuren. In alkalien dagegen ist es gut löslich. Diese lösung bekommt in den ersten tagen eine rötliche färbung, die immer dunkler wird bis zu einem tiefen rot-braun. Noch in 150—200 facher verdünnung ist die farbe später nachweisbar und zwar als leichtes rot.

Im Laurent'schen halbschattenapparat geben alle diese lösungen fast gar keine drehung und unterscheiden sie sich von einander nur dadurch, dass das gesichtsfeld bei ihnen verschieden hell und dunkel ist. Das phloridzin wurde durch hefe nicht verändert. Nachdem wir so die uns interessirenden chemischen und physikalischen eigenschaften des phloridzins untersucht hatten, machten wir einige kleinere versuche, bei denen wir hunden, ohne dass sie vorher gehungert hatten, ganz kleine

dosen von phloridzin beibrachten, und es zeigte sich, dass schon nach verabreichung von 2,0 –4,0 phloridzin sich jedesmal zucker im harn befand. Wir gingen dann zu unseren eigentlichen versuchen über.

Dieselben wurden in der weise angestellt, dass die versuchstiere sich in einem kasten befanden, aus welchem der harn ganz ablaufen konnte. Bei den meisten versuchen waren die tiere ganz kastenrein, und wurde auch bei den männlichen hunden der harn durch die etwas schwierige katheterisation jedesmal morgens in der gleichen stunde entnommen. Um eine zersezung auszuschliessen, wurde der harn immer sofort untersucht.

Die untersuchungen erstreckten sich auf den quantitativen nachweis des harnstoffs und der phosphorsäure, der zucker wurde in der schon oben erwähnten weise durch verschiedene, untereinander zu vergleichende methoden bestimmt.

Wir geben in folgendem einen teil der angestellten versuche chronologisch bekannt, um dann am schluss in einer tabelle die gewonnenen resultate zu vergleichen, und die nötigen schlüsse daraus zu ziehen.

Nachdem ein hund einige tage gehungert hatte, erhielt er am 1. VII. 20 gramm phloridzin. Leider entleerte er in den kasten ausserordentlich viel kot, und zu gleicher zeit harn, so dass der harn mit kot vermischt untersucht werden musste. – (Wir haben auch in einigen anderen fällen die bemerkung gemacht, dass die mit phloridzin gefütterten hunde einen sehr dünnflüssigen kot hatten.) Der versuch wurde mit diesem hunde deshalb nicht weiter fortgesezt, doch ist die gegenwart von zucker sowohl durch die gährungsprobe, als auch im halbschattenapparat, durch die Trommersche probe und durch die kaliprobe mit sicherheit festgestellt.

Ein anderer, kleiner, absolut kastenreiner hund von 6500 gr. gewicht wurde vom 1. VII. im hungerzustande im kasten gehalten, und der harn vom 3. VII an untersucht. Es ergab sich (wie an den ersten beiden tagen auch) kein zucker, (wol aber eine ziemliche quantität reducirender substanz (Orthonitrophenylpropionsäure) und bei einer urinmenge von 30 cm. 2,3 harn-

stoff, und 0,135 phosphorsäure. Der hund bekam an diesem tage etwa 100 ccm. wasser.

Am 4. VII ging das körpergewicht bis 6300 herunter. Bei einer urinmenge von 70 ccm fand sich 4,2 harnstoff und 0,14 phosphorsäure da. Zucker fehlte, dagegen waren viel andere reducirende substanzen zugegen. Der hund bekam dann 10,0 phloridzin mit 240 ccm. wasser. (Das phloridzin wurde den hunden immer per gummischlauch und trichter beigebracht, da keiner von den benuzten hunden es mit dem futter freiwillig zu sich nehmen wollte. Wir hatten versucht, es länger hungernden hunden in dünne fleischscheiben eingewickelt zu geben, (aber ohne erfolg.) Am 5. VII ist das gewicht 6200 gr., die urinmenge 165,0 ccm. harnstoff 13,2 und phosphorsäure 0,4775. Der harn enthält 8,9% zucker durch titrirung mit der Fehlingschen lösung und den halbschattenapparat genau festgestellt. Die bei beiden untersuchungsarten gewonnenen resultate stimmen bis auf ganz kleine fehler überein, und zwar sind die fehler so gering, dass wir sie vernachlässigen können. Am selben tage bekommt der hund 50 ccm. wasser.

Am 6. VII fällt das gewicht bis auf 6000 gr. Die harnmenge ist 75 ccm., harnstoff 7,425 und die phosphorsäure 0,3. Der hund bekommt 150 ccm. wasser mit 30,0 gr. amylum und 10,0 gr. phloridzin. Es waren an diesem tage zwar viel reducirende substanzen im harn, doch nur ganz geringe spuren von zucker vorhanden.

Am 7. VII ist das körpergewicht 5750 gr., die urinmenge 165 ccm., der harnstoff 11,55 und die phosphorsäure 0,5. An zucker finden sich 9,5% im harn vor. Im ganzen scheidet der hund 15,6 gramm zucker an diesem tage aus. Der kot ist mit grossen mengen von blut gemischt, und der hund erbricht eine geringe menge grünlichen schleimes, welcher auf die Trommersche probe reagirt, aber nur geringe mengen zucker enthält, die nicht ein gramm betragen.

Da der hund sehr schwach war, und uns viel daran lag, ihn noch weiter zu benuzen, so gaben wir ihm 150 ccm. milch mit 200 gramm wasser und 30 gramm kindermehl Was den oben angeführten zuckergehalt betrifft, so mussten wir uns in

diesem falle auf die zahlen verlassen, welche der halbschattenapparat ergab, da bei der titrirung der harn bei zusatz von Fehling'scher lösung eine prachtvolle fuchsinrote färbung gab, und die eigentliche reaction ausblieb. Doch ergab auch die kaliprobe ein positives resultat, und das verhalten im gährungsapparate liess auf einen hohen zuckergehalt schliessen.

Am 8. VII steigt das körpergewicht wieder auf 6250 gr. die harnmenge ist 190 ccm, der harnstoff 8,5 und die phosphorsäure 0,228. An zucker finden sich noch 8,5% und ist die zuckermenge im ganzen 16,15 gramm.

Der hund wurde jezt bis zum 9. VII freigegeben und ordentlich gefüttert. Am 10. VII war sein körpergewicht 6500 gr. die urinmenge betrug 135 ccm, der harnstoff 10,7 und die phosphorsäure 0,21. Von zucker war keine spur mehr vorhanden.

Am 11. VII ist das gewicht 6300 gr. Die harnmenge beträgt 110 ccm., der harnstoff 4,4 und phosphorsäure 0,16. Zucker ist nicht vorhanden. Der hund bekommt 100 wasser mit 10 gr. phloridzin und später subcutan 0,1 cocaïn.

Am 12. VII. ist das gewicht 5900, die harnmenge beträgt 80 ccm, der harnstoff 3,76 und die phosphorsäure 0,12. Zucker ist im harn zu 8,8% enthalten.

An dieser stelle möchte ich zunächst einige bemerkungen über die wirkungen des verabreichten cocaïns einschalten. Der hund bekam die iniection um 4 h. 30 m. nachmittags (in die linke schenkelvene). Etwa 5 minuten vor 5 uhr stellte sich starkes würgen und geringes erbrechen ein, während der hund die ganze zeit über unruhig im Zimmer hin und her gelaufen war. Jezt hörte das hin und herlaufen auf, und es kam zu einer permanenten kreislaufbewegung nach links. Dabei bestand sehr starker speichelfluss. Um 5 uhr verlor der hund tropfenweise eine kleine menge urin. Zeitweise schnappt der hund mit dem kiefer herum, dabei hängt die zunge lang heraus und leckt. Etwas später hörte der speichelfluss auf, ebenso die zwangsweisen kreisbewegungen, und lief der hund in grader richtung unruhig hin und her. Die angst und unruhe ist immer noch sehr gross und legt sich erst nach und nach. Schliesslich etwa um 6 bleibt der hund ermattet und nur mühsam atmend liegen.

Während des ganzen anfalles waren die pupillen sehr erweitert, und reagirten nur schwach.

Die wirkung des cocaïn's war also eine sehr prompte. Wir haben sonst oft an anderen hunden die wirkung des cocaïns zu beobachten gelegenheit gehabt, da gleichzeitig mit dieser arbeit ebenfalls unter der aufsicht von herrn prof dr. R. Fleischer über einfluss des cocaïns auf den stoffwechsel gearbeitet wurde.

Wir geben jezt umstehend eine tabellarische übersicht der vorher angeführten versuche:

Tag	Gewicht d. hundes	Harnmenge.	Harnstoff.	Phosphorsäure	Zucker.	Bemerkungen.
3. VII. Dritter hungertag	6500	30 ccm.	2,3	0,135		Der hund bekommt etwa 100 ccm wasser.
4 VII.	6360	70	4,2	0,14		Der hund bekommt 240 ccm wasser mit 10,0 phloridzin.
5 VII.	6200	165	13,2	0,4775	8,9% / 14,58 gr	Der hund bekommt 50 ccm wasser.
6 VII	6200	75	7 425	0,3	Nur spuren von zucker	Der hund bekommt 10 phloridzin, 30 amylum und 150 ccm. wasser.
7. VII.	5750	165	11,55	0,5	9,5% / 15,6 gr.	Der hund bekommt 150 milch, 200 wasser und 30 gr. Kindermehl.
8 VII	6250	190	8,5	0,228	8,5% / 16,15 gr	Der hund wird herausgelassen und gut gefüttert. Am nächsten tage wird der hund wieder eingesezt u.m ihn noch einmal zu phloridzin mit cocaïn zusammen zu geben

	Gewicht d hundes	Harn-menge.	Harnstoff.	Phosphor-säure	Zucker.		Bemerkungen.
10 VII Zweiter hungertag	6500	135	10,62	0,21			Der hund ist am 8 VII ordentlich gefüttert, und am 9. VII vormitags eingesezt
11. VII	6300	110	4,4	0,16			Der hund bekommt 100 wasser mit 10,0 phloridzin und später 0,1 cocaïn subcutan.
12 VII	5900	80	3,76	0,12	8,8% 7,04		Die erscheinungen der cocaïn intoxication sind oben angeführt Der hund wird frei gelassen.

Aus der tabelle geht hervor, dass jedesmal an den ersten tagen, wo der hund phloridzin bekommen hatte, eine bedeutende steigerung der stickstoffausfuhr stattgefunden hat. Es erreichte dieselbe annähernd die gleiche höhe. Zugleich nahm der phosphorsäuregehalt analog zu. Dagegen zeigte sich ein sehr charakteristisches verhalten an dem tage, wo nach dem phloridzin subcutan noch 0,1 cocaïn gegeben wurde. Das cocaïn hatte (siehe oben) eine ausserordentlich charakteristische wirkung gehabt. Es ging die harnstoffausscheidung in keiner weise in die höhe, vielmehr fiel sie noch um 0,5 gegen früher, und es wurde dem entsprechend auch nur die hälfte zucker eliminirt. An diesem tage kamen auf 1,0 harnstoff fast 2,5 zucker, während an den früheren tagen das verhältniss durchschnittlich nur wie 1 : 1,2 war. Es scheint demnach, dass unter dem einfluss der cocaïn-einwirkung der gesammte aus dem eiweis abgespaltene zucker mit dem harn ausgeschieden wird, während bei den früheren versuchen ein teil des aus dem eiweis abgespaltenen zucker's im tierkörper noch verbrannt wurde.

Wir können demnach die angaben von v. Mering, dass unter dem einfluss des phloridzin's beim hungernden hund, der aus dem eiweis abgespaltene zucker zum grossen teil mit dem harn ausgeschieden wird, bestätigen. Es entsteht aber nur melliturie, ein anderes charakteristisches symptom des diabetes mellitus, die polyurie fehlt ganz. Obwol der urin an manchen tagen 8—9% zucker enthielt, also mengen, wie sie bei schwerem diabetes vorkommen, so stieg die urinmenge nicht über 165 ccm. An einem tage wurden nur 80 cm. ausgeschieden. Zu ähnlichen resultaten kam v. Mering. Vergleichen wir ferner die zuckerausscheidung an den beiden tagen an welchen nur 10,0 phloridzin und dann 10,0 phloridzin + 30,0 gr. amylum gereicht wurde, welches bekanntlich im tierkörper zu zucker umgewandelt wird, so ist dieselbe fast gleich. Es wird also dieser traubenzucker, der aus dem amylum gebildet wird, noch verbrannt.

Durch umfassendere versuchsreihen müssen in späterer zeit die von uns in wenigen versuchen festgestellten resultate sicher gestellt werden.